

nm23-H1 表达预测大肠癌转移的价值研究

余保平¹, 王伟岸², 于皆平¹, 沈志祥¹, 罗和生¹

摘 要:目的 大肠癌预后取决于是否存在肿瘤转移,目前尚无肯定的观测大肠癌细胞恶性潜能的生物学指标。本研究目的在于探讨 nm23-H1 作为预测大肠癌转移指标的潜在价值。方法 采用免疫组织化学链霉菌亲合物素蛋白—生物素酶标(SP)方法对 58 例存档大肠癌标本进行 nm23-H1 蛋白表达检测,用 SSPS 统计软件包对 nm-H1 表达与临床病理参数的关系进行分析。结果 正常大肠粘膜和大肠腺瘤 nm23 呈阳性表达,62.1% 大肠癌组织阳性表达。nm23 表达与肿瘤分级、淋巴结及肝转移负相关(P 值分别为 0.0100 0.2087 0.00376)。nm23 阳性表达的大肠癌患者预后好($P=0.0002$)。结论 nm23-H1 是预测大肠癌细胞转移潜能和预后的敏感指标。

关键词:大肠癌;转移;nm23-H1

中图分类号:R735.3⁺4 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2000)02-0103-02

目前,研究肿瘤细胞恶性潜能的生物学标志、预测肿瘤转移趋势是肿瘤防治研究的一个重点。而大肠癌发生发展的多阶段过程为研究不同基因在大肠癌演变中的作用奠定了基础^[1]。研究发现 nm23-H1 抑制肿瘤转移可能是组织特异性作用,nm23H1 与大肠癌转移潜能的关系仍有争议,有人甚至认为呈现肿瘤演化阶段的特异性作用^[2]。我们用免疫组织化学链霉菌亲合物素蛋白-生物素酶标方法(简称 SP 法)检测了大肠癌组织标本 nm-H1 的表达,并探讨其表达与大肠癌细胞远处转移的关系。

1 材料和方法

1.1 研究对象 全部病例为 1991 年 10 月~1995 年 10 月期间在湖北医科大学附属第一医院接受外科手术的大肠癌患者,腺瘤及正常大肠粘膜为同期内镜活检标本,均经病理证实。大肠癌患者 58 例,其中男性 38 例,女性 20 例。年龄 24~79 岁,年龄中位数为 63 岁。原发灶位于直肠和乙状结肠 44 例,其它肠段 14 例。肿瘤直径<3cm 者 18 例,≥3cm40 例。腺瘤 29 例,正常粘膜 29 例。

1.2 试剂和检查方法 单克隆抗体 nm23-H1(简称:单抗)为美国公司产品,从福州迈新生物新技术公司购进。其它试剂按试验要求自行配制。按常规进行组织切片的 SP 染色。

1.3 结果判定 nm23-H1 蛋白主要在胞浆着色,呈棕色颗粒,阳性细胞数<25% 为阴性,25%~75% 为阳性,>75% 为强阳性。免疫组化读片由两名病理专科医师独立进行。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 软件包对 nm23-H1 与大肠癌生物学行为关系进行统计学分析。 $P<0.05$ 为显著性检验水准。

2 结果

2.1 临床资料 本组病人中高中分化腺癌 38 例、低分化腺癌 14 例,其他类型 6 例(包括印戒细胞癌 2 例,粘液腺癌 4 例)。镜下浸润深度限于肌层者 27 例,已累及浆膜者 31 例。伴淋巴结转移 27 例,其中 10 例有肝转移,按 Dukes 分期 A 期 18 例、B 期 13 例、C 期 18 例、D 期 10 例。

2.2 免疫组织化学检验结果 nm23-H1 染色情况: nm23-H1 主要在细胞浆中表达,少数可表达在细胞膜上。正常粘膜组织和大肠腺瘤中均有中等程度的 nm23-H1 阳性表达,而 58 例大肠癌病人癌组织 nm23-H1 阳性表达 13 例,阳性率 62.1%(见图 1~3)

附表 nm23-H1 表达与大肠癌病人临床病理指标的关系

		病例数	阳性数 (阳性率%)	χ^2 检验 P 值
性别	男	38	23(60.5)	0.73857
	女	20	13(65)	
年龄(岁)	<45	9	5(55.6)	0.92049
	45~	17	12(70.6)	
	≥60	32	19(59.4)	
部位	直、乙状结肠	44	28(63.6)	0.54961
	其它肠段	14	8(57.1)	
肿瘤长径(cm)	<3	18	14(77)	0.23458
	≥3	40	22(55)	
组织学类型				0.89518
中高分化腺癌		38	26(68)	
低分化腺癌		14	6(42)	
其它类型		6	4(66)	
浸润范围	肌层	27	17(63)	0.02087
	浆膜	41	19(46)	
淋巴结转移	有	27	12(44)	0.00376
	无	31	24(77)	
肝转移	有	10	2(20)	0.010016
	无	48	31(64)	
Duke 分期	A	18	14(77)	
	B	13	9(70)	
	C	18	8(44)	
	D	10	5(50)	

2.3 nm23-H1 表达与大肠癌病人临床病理指标的关系 nm23-H1 阳性表达患者淋巴结和肝脏转移率低(P 值分别为 0.02087 0.00375),并且与 Duke 分期关系密切,D 期阳性率低(P 值 0.0100);与其它指标无

收稿日期:1999-03-29,修回日期:1999-10-18
作者单位:1.430071 武汉,湖北医科大学附属第一医院
消化内科 2.中国医学科学院中国协和医科大学协和医院
消化内科

相关性 (P 值 >0.05)。

2.4 预后分析 利用 COX 比例风险模型分析 nm23-H1 表达与大肠癌病人预后的关系,共引入预后因素 10 个,先行的单因素分析发现肿瘤大小、组织学类型、浸润深度、淋巴结转移及肝转移、Duke 分期和 nm23-H1 与预后相关 ($P<0.05$) 进一步进行 COX 多因素回归分析发现 Duke 分期 ($P<0.001$)、肝及淋巴结转移 ($P<0.01$) 及 nm23-H1 ($P<0.01$) 表达是大肠癌独立的预后因素。nm23 阳性表达患者预后优于阴性表达患者 ($P<0.0002$)。

3 讨论

临床上,常常用 Dukes 分期和 WHO 的 TNM 分期来判断大肠癌病人的预后。但这些标准难以准确反映大肠癌细胞的生物学行为,并且与病人就诊的早晚有很大关系。为建立更为合理的分期标准并指导治疗决策,术前从细胞生物动力学角度分析癌细胞的转移潜能显得非常重要,肿瘤分子生物学的研究进展使其成为可能。研究发现 nm23 基因作为一种抑癌基因可在多个层次影响肿瘤细胞的生物学行为,其中 nm23 异常表达可影响瘤细胞表面分子的分泌而促进肿瘤细胞从原发灶脱落并突破基底膜屏障,而后通过调节细胞运动状态并避开机体免疫系统监视,穿越脉管系统进入转移的靶器官形成克隆化生长^[3]。因此,检测大肠癌组织的 nm23 基因蛋白表达水平可能有助于预测大肠癌细胞的转移潜能,进而有利于临床决策。

本研究发现 nm23-H1 表达丧失的患者远处转移发生率高,是预测大肠癌细胞转移潜能的可靠指标,是独立的预后参数。nm-23 表达与 Duke 分期呈负相关,阳性表达的大肠癌患者预后好 ($P=0.0002$)。还发现 nm23-H1 蛋白可表达在肿瘤细胞膜上,文献鲜见报道,由于病例数少,临床意义难以评价。Wang 等^[4]用 Southern 印迹法及 RT-PCR 技术发现 20 例大肠癌患者中,8 例有淋巴结转移者中 4 例存在 nm23-H1 等位基因丢失或突变,无转移的 12 例病人却无上述改变。这一结果与本研究的结论是一致的。

Camp 等^[5]认为 nm23-H1 等位基因缺失与肿瘤低分化程度密切相关 ($P=0.03$),且生存期缩短 ($P<0.05$),而 Martinez 等^[6]发现 TNM 分期中 I~II 期病人 nm23-H1 和 H2 过度表达率分别为 89% 和 81%,III~IV 期相应表达为 47% 和 38%,他们认为 nm23-H1 和 H2 过度表达是结肠癌发生的早期事件,而 nm23-H1 表达降低是晚期事件。我国徐氏等^[7]发现 nm23-H1 等位基因丢失在有转移病例为 57.1%,明显高于无转移者 ($P<0.005$),并且与肿瘤大小、部位、分化程度无关。这些结论增加了认识大肠癌转移过程中 nm23 基因作用的复杂性。

尽管如此,本研究和其他研究者发现正常大肠粘膜组织和大肠良性腺瘤 nm23 阳性表达,其表达水平一致,并且主要位于增殖区。而大肠癌细胞 nm23 基因表达丧失与高转移潜能相关。因此, nm23 基因是一种敏感的预测大肠癌转移潜能的生物学标志。(本文图见封 4)

参考文献:

- [1] Konh EC, Liotta LA. Molecular insights into cancer invasion strategies for prevention and intervention[J]. Cancer Res, 1995, 55: 1856 ~ 1862.
- [2] Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L, et al. Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential[J]. J. Natl Cancer Inst, 1988, 80: 200 ~ 204.
- [3] 王伟岸,于皆平,罗和生. nm23 基因对肿瘤细胞生物学行为的影响[J]. 国外医学内科分册, 1997, 24: 465 ~ 467.
- [4] Wang L, Patel U, Ghosh L, et al. Mutation in the Nm23 gene is associated with mwstasis in colorectal cancer[J]. Cancer Res, 1993, 53: 717 ~ 720.
- [5] Camp E, Miquel R, Jares P, et al. Prognostic significance of the loss of heterozygosity of Nm23-H1 and p53 gene in human colorectal carcinomas[J]. Cancer, 1994, 73: 2913 ~ 2921.
- [6] Martinez JA, Prevot S, Nordlinger B, et al. Overexpression of nm23-H1 and Nm23-H2 genes in colorectal carcinomas and Loss of Nm23-H1 expression in advanced tumor stages[J]. Gut, 1995, 37: 720 ~ 721.
- [7] Xu W, Bai J, Yang D. Correlation Study of allelic gene deletion of Nm23-H1 and human colorectal carcinoma metastasis[J]. 中华肿瘤杂志, 1995, 17: 263 ~ 265.

The Value on nm23-H1 Predication of Metastatic Potential in Colorectal Carcinomas

YU Bao-ping, WANG Wei-an, YU Jie-ping, et al

Dept. of GI in the First Affiliated Hospital, HuBei Medical University, Wuhan 430060, China

Abstract Objective Most deaths from colorectal carcinoma are due to metastasis. However, there is no reliable metastatic potential indicator to date. This study was performed to investigate the potentials of nm23-H1 as metastatic potential markers in colorectal cancer. **Method** Immunohistologic staining for nm23-H1 was performed on archival materials from 58 patients with colorectal carcinomas by SP assay. The relationship between nm23-H1 expression in tumor tissues and clinicopathological parameters was analyzed using SSPS software. **Results** 62.1% of patients with colorectal cancer expressed elevated levels of nm23-H1, and correlated with decreasing tumor stage ($P=0.01$), and had a negative relation with lymph node and liver metastasis ($P=0.02087, 0.00376$, respectively). nm23-H1 as a reliable metastatic potential marker, overexpression of nm23-H1 contributed to good prognosis ($P=0.0002$). **Conclusion** nm23-H1 is a sensitive marker for predication of metastatic potential in colorectal carcinomas.

Key words Colorectal carcinomas; nm23-H1; Metastasis

nm23-H1 表达预测大肠癌转移的价值研究

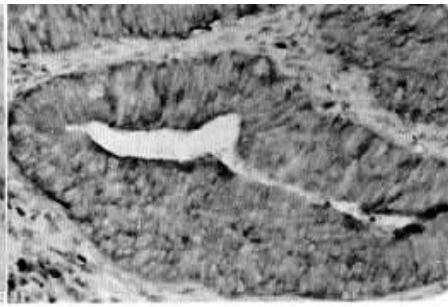
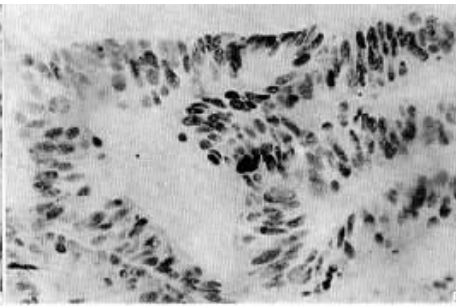
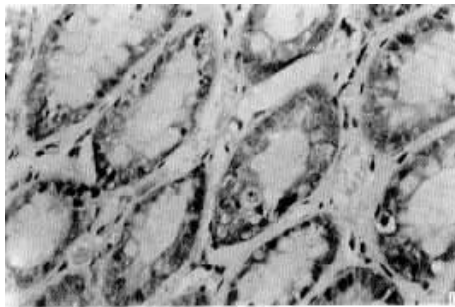


图1 nm23 在增生性腺瘤中呈中等强度 图2 nm23 在大肠癌中呈强阳性表达
表达 SP 染色 $\times 400$

SP 染色 $\times 400$

图3 nm23 在大肠癌中呈强阳性表达
SP 染色 $\times 400$